# 黔产剑叶凤尾蕨的化学成分研究

肖丽[1]，申琳燕[1]，张敬杰[1]，何康[1]，叶江海[1]，赵臣亮[1]，张奇龙[2]，邹娟[1,*]
（1. 贵州中医药大学，贵阳 550025；2.贵州医科大学 基础医学院，贵阳 550025）

**摘　要：**为研究剑叶凤尾蕨（*Pteris ensiformis*）的化学成分。该文选用硅胶、凝胶、MCI、$C_{18}$等柱色谱进行分离纯化，结合 $^1$H-NMR、$^{13}$C-NMR、MS、IR 等波谱数据鉴定化合物结构；通过 MTS 和 APTT、PT 以及 TT 等方法对所分离得到的部分单体化合物进行抗肿瘤和抗凝血活性筛选。结果表明：（1）从剑叶凤尾蕨中分离得到 15 个化合物，分别为 2-羟基-乙酰基吡咯（**1**）、N-(3-羧丙基)-2-乙酰基吡咯（**2**）、3-羟基-2-甲基吡啶（**3**）、N-甲基羟胺（**4**）、pterosin S 13-*O*-glucoside（**5**）、obtupterosin C（**6**）、*ent*-11*α*-hydroxy-15-oxokauran-19-oic acid（**7**）、*ent*-11*α*-hydroxy-15-oxokaur-16-en-19-oic acid（**8**）、*β*-谷甾醇（**9**）、*ent*-11*α*-hydroxy-15-oxo-kaur-16-en-19-oic acid-*O*-glucopyranoside（**10**）、5, 5'-二丁氧基-2, 2'-双环呋喃（**11**）、5, 5'-二 (2-乙基-己氧基)-2, 2'-双环呋喃（**12**）、黑麦草内酯（**13**）、丁二酸（**14**）、富马酸（**15**）。化合物 **1** 为新的吡咯生物碱类天然产物，化合物 **1-7**、**10-15** 为首次从剑叶凤尾蕨中分离得到，化合物 **1**、**3**、**4** 为首次从凤尾蕨属植物中分离得到；（2）活性测试结果表明化合物 **1**、**2**、**3**、**5**、**6**、**10** 在浓度为 40 μmol/L 时对肿瘤细胞 HL-60、A549、SMMC-7721、MDA-MB-231 及 SW480 的体外肿瘤生长有抑制作用；样品浓度为 2.0 mmol/L 时，化合物 **1**、**2**、**3**、**6** 对 APTT 有缩短作用，化合物 **1**、**5**、**6** 对 PT 有延长作用。该研究结果丰富了黔产剑叶凤尾蕨的化学成分，为抗肿瘤药物的研发提供了物质基础。

**关键词：**剑叶凤尾蕨，化学成分，结构鉴定，抗肿瘤活性

## Chemical constituents of *Pteris ensiformis* from Guizhou

XIAO Li[1], SHEN Linyan[1], ZHANG Jingjie[1], HE Kang[1], YE Jianghai[1], ZHAO Chenliang[1], ZHANG Qilong[2], ZOU Juan[2]
（1.Guizhou University of Traditional Chinese medicine, Guiyang 550025, China；2.College of Basic Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China）

---

**基金项目：**国家自然科学基金项目(81660723)；贵州省科技计划项目［黔科合平台人才(2017)5618］；贵州省中医药管理局项目（QZYY-2015-125）。
**第一作者：**肖丽(1999-)，硕士研究生，研究方向为中药及民族药资源与化学，(E-mail) 2713500642@qq.com。
***通讯作者：**邹娟，博士，副教授，研究方向为中药及民族药资源与化学，(E-mail) zoujuan466@gzy.edu.cn。

**Abstract:** To study the chemical constituents of *Pteris ensiformis*. In this paper, silica gel, gel, MCI, $C_{18}$ and other column chromatography for separation and purification, and their structures were identified by $^1$H-NMR, $^{13}$C-NMR, MS and IR spectra; the anti-tumor and anti-coagulation activities of some monomers were screened by MTS, APTT, PT and TT. The results were as follows：(1)15 compounds were isolated from the *P. ensiformis*, the compounds were 2-hydroxyl-acetyl pyrrole (**1**), N-(3-carboxypropyl)-2-acetyl pyrrole (**2**), 3-hydroxyl-2-methylpyridine (**3**), N-methyl hydroxylamine (**4**), pterosin S 13-*O*-glucoside (**5**), obtupterosin C (**6**), *ent*-11*α*-hydroxy-15-oxokauran-19-oic acid (**7**), *ent*-11*α*-hydroxy-15-oxokaur-16-en-19-oic acid (**8**), ***β***-sitosterol (**9**), *ent*-11*α*-hydroxy-15-oxo-kaur-16-en-19-oic acid-*O*-glucopy ranoside (**10**), 5, 5'-dibutoxy-2, 2'-bifuran (**11**), 5, 5'-di(2-ethyl-hexyloxy)-2, 2'-bifuran (**12**), (-)-loliolide (**13**), succinic acid (**14**), fumaric acid (**15**). Compound **1** is a new natural product of pyrrole alkaloids. Compounds **1-7**, **10-15** were isolated from *P. ensiformis* for the first time, and compounds **1**, **3**, **4** were isolated from *Pteris* for the first time; (2) The results of activity testshowed that compounds **1**, **2**, **3**, **5**, **6** and **10** inhibited the growth of tumor cells HL-60, A549, SMMC-7721, MDA-MB-231 and SW480 in vitro at a concentration of 40 μmol/L, At the concentration of 2.0 mmol/L, compounds **1**, **2**, **3** and **6** shortened APTT and compounds **1**, **5** and **6** prolonged PT. The study enriches the chemical constituent of Guizhou *P. ensiformis* and provide a material basis for the development of anti-tumor drugs.

**Keywords**: *Pteris ensiformis*, chemical constituents, structural identification, anti-tumor activity

剑叶凤尾蕨（*Pteris ensiformis*）为凤尾蕨属植物，又名细叶凤尾草、凤尾草、井栏草、凤凰草、井边茜，在我国分布于华南、西南、华东及台湾等地，以全草或根茎入药（张艳等，2016；Shi et al.，2017）。剑叶凤尾蕨有清热利湿、活血破瘀、消肿解毒的功效（Liva et al.，2009；潘炉台等，2012；管玉格等，2018），可用于痢疾、黄疸、淋证、跌打损伤等疾病的治疗（管玉格等，2018）。研究表明，剑叶凤尾蕨中含有二萜类、倍半萜类、黄酮类、酚酸类等化合物（张艳等，

2016；Hou et al.，2020），其中二萜类和倍半萜类化合物具有一定的抗肿瘤活性，而二萜类化合物抗肿瘤活性较好，尤其是母核为对映-贝壳杉烷型的二萜，如 pterisolic acid C 能有效控制人胃癌细胞 BGC-823、人结肠癌细胞 HCT-116 和肝癌细胞 Hep G2（张艳等，2016）。但未发现有关黔产剑叶凤尾蕨化学成分和生物活性研究的报道，因此，为更深入研究黔产剑叶凤尾蕨植物的化学成分，以获得更多含量较高、活性较强、低毒性的天然化学成分，本课题从黔产剑叶凤尾蕨醇提物中分离得到 15 个化合物，经波谱数据分析分别鉴定为 2-羟基-乙酰基吡咯（**1**）、N-(3-羧丙基)-2-乙酰基吡咯（**2**）、3-羟基-2-甲基吡啶（**3**）、N-甲基羟胺（**4**）、pterosin S 13-*O*-glucoside（**5**）、obtupterosin C（**6**）、*ent*-11*α*-hydroxy-15-oxokauran-19-oic acid（**7**）、*ent*-11*α*-hydroxy-15-oxokaur-16-en-19-oic acid（**8**）、*β*-谷甾醇（**9**）、*ent*-11*α*-hydroxy-15-oxo-kaur-16-en-19-oic acid-*O*-glucopyranoside（**10**）、5, 5'-二丁氧基-2, 2'-双环呋喃（**11**）、5, 5'-二 (2-乙基-己氧基)-2, 2'-双环呋喃（**12**）、黑麦草内酯（**13**）、丁二酸（**14**）、富马酸（**15**）。化合物 **1** 为新天然产物，其余化合物除化合物 **8**、**9** 外均为首次从剑叶凤尾蕨中分离得到，其中化合物 **1**、**3**、**4** 为首次从凤尾蕨属中分离得到；并初步探究了部分化合物的抗肿瘤及抗凝血活性，化合物 **1**、**2**、**3**、**5**、**6**、**10** 在浓度为 40 μmol/L 时可抑制肿瘤细胞 HL-60、A549、SMMC-7721、MDA-MB-231 和 SW480 的体外肿瘤生长；当样品浓度为 2.0 mmol/L 时，化合物 **1**、**2**、**3**、**5**、**6** 显示出不同程度的抗凝血活性。

## 1 仪器与材料

Bruker Avance NEO 600 MHz 核磁共振光谱仪、Bruker Daltonics Compact 质谱仪（德国 BRUKER 仪器公司）；ICAN 傅立叶变换红外光谱仪（天津市能谱科技有限公司）；X-5 显微熔点测定仪（巩义市予华仪器有限责任公司）；WFH-203B 三用紫外分析仪（上海精科实业有限公司）；柱色谱硅胶（100~200 目、200~300 目、300~400 目，青岛海洋化工厂分厂）；CHP 20P 75-150 μmMCI GEL（日本三菱化学公司）；30-60 目聚酰胺（浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂品）；石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇、冰醋酸（贵州祥辉仪器有限公司，AR）。

Cellometer mini 细胞计数仪（美国 Nexelom 公司）；370 $CO_2$ 培养箱（美国

Thermo 公司）、MULTISKAN FC 酶标仪（美国 Thermo 公司）;MC-4000 血凝仪（德国美创）；093UK-K272A 凝血质控血浆（德国 TECO 公司）、APTT 试液（德国 TECO 公司）、PT 试液（德国 TECO 公司）、TT 试液（德国 TECO 公司）；HL-60 白血病细胞（美国 ATCC 公司）、A549 肺癌细胞（美国 ATCC 公司）、SMCC-7721 肝癌细胞（美国 ATCC 公司）、MDA-MB-231 乳腺癌细胞（美国 ATCC 公司）、SW480 结肠癌细胞（美国 ATCC 公司）；N1001A 顺铂（美仑生物科技公司）、D1106A 紫杉醇（美仑生物科技公司）；MTS 试剂盒（美国 Promega 公司）。

实验药材采自贵州省黔东南苗族侗族自治州黎平县，经贵州中医药大学赵俊华教授鉴定，确定为凤尾蕨科凤尾蕨属植物剑叶凤尾蕨（*Pteris ensiformis*），植物凭证标本存放于贵州中医药大学生药学实验室。

## 2 提取与分离

干燥剑叶凤尾蕨药材 19.5 kg。常温下用 95%工业甲醇浸渍，每次 7 天，共浸渍提取 7 次（95%甲醇提取 1 次，90%甲醇提取 3 次，70%甲醇提取 3 次），合并提取液，减压回收溶剂得到浸膏约 7.8 kg。将浸膏用适量温水溶解，采用液-液萃取法，依次用等体积的石油醚、乙酸乙酯、水饱和正丁醇进行萃取，再分别减压回收溶剂得到石油醚部位 1 590 g、乙酸乙酯 340 g、正丁醇部位 2 550 g。

乙酸乙酯部位（340 g），采用 MCI 树脂(GEL CHP 20P)反相柱色谱初步分离，以甲醇-水为洗脱系统（3∶7、1∶1、3∶2、7∶3、4∶1、9∶1、10∶0）进行梯度洗脱，得到 Fr.A~Fr.G 共 7 个组分。Fr.A（172 g）经硅胶柱色谱，以二氯甲烷-乙酸乙酯（30∶1→0∶1）、乙酸乙酯-甲醇（20∶1→1∶1）梯度洗脱，结合重结晶得到化合物 **3**（23 mg），将剩余流分按 TLC 检测结果合并，分别得到 Fr.A-1~6。Fr.A-1（45 g）经硅胶柱色谱，结合凝胶柱色谱及重结晶等方法，得到化合物 **11**（23 mg）、化合物 **1**（29 mg）与化合物 **4**（8 mg）。Fr.B（41 g）经硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇（100∶1→1∶1）梯度洗脱，得到 Fr.B-1~6。Fr.B-1、Fr.B-2 经硅胶柱色谱及重结晶，得到化合物 **13**（76 mg）、化合物 **2**（20 mg）、化合物 **8**（18 mg）。Fr.C（17 g）经硅胶柱色谱，以石油醚-乙酸乙酯（20∶1→3∶1）洗脱，及重结晶得到化合物 **7**（34 mg），并得到 6 个组分 Fr.C-1~6。Fr.C-3，Fr.C-5 经多次硅胶柱色谱、凝胶柱层析及重结晶，得到化合物 **9**（384 mg）、化

合物 **12**（7 mg）。将 Fr.C 剩余样品部分与 Fr.D 合并（12 g）经 $C_{18}$ 反相柱色谱，以甲醇-水（1∶1、3∶2、7∶3、85∶15、10∶0）梯度洗脱，得到 Fr.CD-1~3。其中 Fr.CD-1 经硅胶柱色谱，结合凝胶柱色谱与重结晶得到化合物 **10**（64 mg）。

正丁醇部位（2 550 g）经硅胶柱色谱，以乙酸乙酯-甲醇（1∶0、50∶1、30∶1、10∶1、5∶1、3∶1、1∶1）梯度洗脱，得到 7 个组分：Fr.H~N。Fr.H（220 g）经硅胶柱色谱，以石油醚-乙酸乙酯（15∶1→1∶1）洗脱，得到 Fr.H-1~5。Fr.H-4（57 g）经硅胶柱色谱，结合凝胶柱色谱及重结晶得到化合物 **14**（45 mg）。Fr.I（383 g）经硅胶柱色谱，以二氯甲烷-甲醇（30∶1→3∶1）洗脱，得到 Fr.I-1~5。Fr.I-3 经反复硅胶柱色谱及重结晶化合物 **15**（14 mg）。Fr.L（397 g）经硅胶柱色谱，以二氯甲烷-甲醇（50∶1→1∶1）洗脱，得到 Fr.L-1~7。Fr.L-4（48 g）经 $C_{18}$ 反相柱色谱，以甲醇-水（1∶1、3∶2、7∶3、85∶15、10∶0）梯度洗脱，得到 Fr.L-4-1~5。其中 Fr.L-4-2 经硅胶柱色谱，及重结晶得到化合物 **6**（29 mg）、化合物 **5**（57 mg）。

## 3 结构鉴定

**化合物 1：**白色结晶（甲醇），熔点（melting point, mp）：111.9~131.1 ℃；在紫外波长 254 nm 下观察有荧光。HR-ESI-MS 数据显示，$[M+Na]^+$ *m/z* 148.036 4（计算值 $C_6H_7NO_2Na$，148.036 9），确定该化合物的分子式为 $C_6H_7NO_2$，不饱和度为 4。红外光谱（IR）显示，在 164 4.7 $cm^{-1}$ 处有吸收提示可能有羰基，在 3 311.4 $cm^{-1}$ 处有吸收提示可能有羟基。

据 $^1H$-NMR（600 MHz，Methanol-$d_4$）数据：$\delta_H$ 7.09（1H，dd，$J$ = 2.4，1.4 Hz），7.00（1H，dd，$J$ = 3.9，1.4 Hz），6.24（1H，dd，$J$ = 3.9，2.4 Hz）推测该化合物可能含有 2 个双键上的氢信号，$\delta_H$ 4.63（2H，s）推测为连氧碳上的氢信号，且与季碳相连。从 $^{13}C$-NMR（150 MHz，Methanol-$d_4$）数据可知化合物 **1** 有 6 个碳信号，其中 $\delta_C$ 189.9 推测为 1 个羰基碳信号，$\delta_C$ 65.2 推测有 1 个连氧碳信号，$\delta_C$ 130.1，126.6，117.4，111.2 推测可能有 2 个双键上的碳信号。结合 $^{13}C$-NMR 和 DEPT 谱可推断出该化合物含有 6 个碳，其中 1 个亚甲基，3 个次甲基，2 个季碳。综合以上数据，可初步推断出该化合物为吡咯生物碱类化合物。

据 $^1H$-$^1H$ COSY 谱可知，$\delta_H$ 6.24（H-4）与 $\delta_H$ 7.00（H-3）、7.09（H-5）相关，可推出 C3-C4-C5 片段，据 NOESY 谱中 $\delta_H$ 4.63（H-7）与 $\delta_H$ 7.00（H-3）相

关，且在 HMBC 谱中，$\delta_H$ 4.63（H-7）与 $\delta_C$ 189.9（C-6）有相关信号，显示该羟甲基连接在 C-6 位。$\delta_H$ 6.24（H-4）与 $\delta_C$ 117.4（C-3），126.6（C-5），130.1（C-2）有相关信号，$\delta_H$ 7.00（H-3）与 $\delta_C$ 111.2（C-4），126.6（C-5），130.1（C-2）有相关信号，$\delta_H$ 7.09（H-5）与 $\delta_C$ 117.4（C-3），111.2（C-4），130.1（C-2）有相关信号。

综上所述，鉴定化合物 **1** 的结构如图 1 所示，且为新天然产物，命名为：2-羟基-乙酰基吡咯。化合物的 HMBC、$^1$H-$^1$H COSY、NOESY 谱相关信号见图 2，具体核磁数据见表 1。

图 1 化合物 **1** 的结构式

Fig. 1 structural formula of Compound **1**

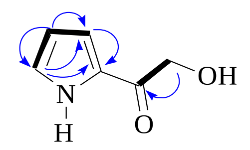



图 2 化合物 **1** 的结构及主要 $^1$H-$^1$H COSY HMBC 相关

Fig.2 Structure and key $^1$H-$^1$H COSY HMBC correlations of Compound **1**

表 1 化合物 **1** 的 $^1$H-和 $^{13}$C-NMR (600/150 MHz, $CD_3OD$)数据

Table 1 $^1$H-and $^{13}$C-NMR (600/150 MHz, $CD_3OD$) data of Compound **1**

| 位置 Position | H 化学位移 $\delta_H$ | C 化学位移 $\delta_C$ |
|---|---|---|
| 2 | — | 130.1 |
| 3 | 7.00（1H，dd，*J* = 3.9，1.4 Hz） | 117.4 |
| 4 | 6.24（1H，dd，*J* = 3.9，2.4 Hz） | 111.2 |
| 5 | 7.09（1H，dd，*J* = 2.4，1.4 Hz） | 126.6 |
| 6 | — | 189.9 |
| 7 | 4.63（2H，s） | 65.2 |

**化合物 2:** $C_{10}H_{13}NO_3$，白色结晶（甲醇）；HR-ESI-MS：$[M+Na]^+$ *m/z* 218.0787。$^1$H-NMR（600 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：7.11（1H，dd，*J* = 4.1，1.7 Hz，H-3），7.04（1H，t，*J* = 2.1 Hz，H-5），6.16（1H，dd，*J* = 4.1，2.5 Hz，H-4），4.36（2H，t，*J* = 6.9 Hz，H-1′），2.42（3H，s，H-7），2.22（2H，t，*J* = 7.4 Hz，

H-3′），2.00-1.96（2H，m，H-2′）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$: 131.0（C-2），122.8（C-3），109.4（C-4），132.7（C-5），190.3（C-6），27.1（C-7），49.6（C-1′），27.7（C-2′），31.5（C-3′），176.6（C-4′）。以上数据与文献报道一致（李蒙等，2019），故鉴定化合物 **2** 为 N-(3-羧丙基)-2-乙酰基吡咯。

**化合物 3**：$C_6H_7NO$，白色结晶（甲醇）；HR-ESI-MS：$[M+H]^+$ *m/z* 110.060 0。$^1$H-NMR（600 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：7.85（1H，dd，$J$ = 4.9，1.4 Hz，H-6），7.16（1H，dd，$J$ = 8.2，1.4 Hz，H-4），7.08（1H，dd，$J$ = 8.2，4.9 Hz，H-5），2.39（3H，s，H-7）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：147.5（C-2），153.8（C-3），123.4（C-4），123.7（C-5），139.2（C-6），18.4（C-7）。以上数据与文献报道一致（段洁等，2009），故鉴定化合物 **3** 为 3-羟基-2-甲基吡啶。

**化合物 4**：白色粉末；$^1$H-NMR（600 MHz，DMSO-$d_6$）$\delta$：4.17（1H，m，-NH），3.17（3H，d，$J$ = 5.1 Hz，$-CH_3$）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，DMSO-$d_6$）$\delta$：48.8（$-NCH_3$）。以上数据与文献报道一致（张宝等，2018），故鉴定化合物 **4** 为 N-甲基羟胺。

**化合物 5**：白色结晶（DMSO）； HR-ESI-MS：$[M+Na]^+$*m/z* 435.161 8，$C_{20}H_{28}O_9$。$^1$H-NMR（600 MHz，DMSO-$d_6$）$\delta$：7.44（1H，s，H-4），5.03（1H，d，$J$ = 4.8 Hz，H-14），4.87（1H，d，$J$ = 5.6 Hz，H-14），4.61（1H，t，$J$ = 4.8 Hz，H-3），4.18（1H，d，$J$ = 7.8 Hz，H-1′），3.81（1H，d，$J$ = 8.2 Hz，H-13），3.65（1H，d，$J$ = 6.4 Hz，H-6′），3.61（1H，d，$J$ = 8.7 Hz，H-13），3.42（1H，s，H-6′），3.13（1H，d，$J$ = 4.5 Hz，H-5′），3.10（2H，d，$J$ = 7.8 Hz，H-12），3.09（1H，d，$J$ = 3.7 Hz，H-3′），3.04（1H，d，$J$ = 9.1 Hz，H-4′），2.96（1H，d，$J$ = 8.3 Hz，H-2′），2.44（3H，s，H-11），2.43-2.40（1H，m，H-2），1.21（3H，d，$J$ = 7.3 Hz，H-10）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，DMSO-$d_6$）$\delta$：205.1（C-1），53.5（C-2），73.8（C-3），126.3（C-4），145.0（C-5），137.3（C-6），138.6（C-7），131.0（C-8），154.0（C-9），12.7（C-10），20.8（C-11），28.9（C-12），68.3（C-13），54.8（C-14），103.0（C-1′），73.6（C-2′），77.0（C-3′），70.2（C-4′），76.9（C-5′），61.2（C-6′）。以上数据与文献报道一致（Murakami et al.，1985），故鉴定化合物 **5** 为 pterosin S 13-*O*-glucoside。

**化合物 6**：白色结晶（甲醇）；$^1$H-NMR（600 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：7.51

（2H，s，H-4，4′），5.11（2H，d，$J$ = 12.1 Hz，H-14，14′），5.00（2H，d，$J$ = 12.1 Hz，H-14，14′），4.74（2H，d，$J$ = 4.1 Hz，H-3，3′），4.25（2H，d，$J$ = 7.8 Hz，H-1″），4.06（2H，d，$J$ = 7.4 Hz，H-13，13′），3.84（2H，s，H-6″，6″），3.69（2H，d，$J$ = 9.6 Hz，H-13，13′），3.66（2H，s，H-6″，6″），3.31（2H，s，H-3″），3.27（2H，s，H-2″），3.26（2H，s，H-5″），3.21（4H，d，$J$ = 7.9 Hz，H-12，12′），3.19（2H，s，H-4″），2.52（6H，s，H-11，11′），1.34（6H，d，$J$ = 7.3 Hz，H-10，10′）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：207.8（C-1，1′），54.9（C-2，2′），76.1（C-3，3′），127.7（C-4，4′），147.3（C-5，5′），138.5（C-6，6′），139.6（C-7，7′），132.9（C-8，8′），155.3（C-9，9′），13.0（C-10，10′），21.5（C-11，11′），29.9（C-12，12′），70.2（C-13，13′），57.8（C-14，14′），104.6（Glc-1，1′），71.6（Glc-2，2′），78.0（Glc-3，3），75.1（Glc-4，4′），78.0（Glc-5，5′），62.7（Glc-6，6′）。以上数据与文献报道一致（Peng et al.，2020），故鉴定化合物 **6** 为 obtupterosin C。

**化合物 7**：$C_{20}H_{30}O_4$，白色结晶（甲醇）；HR-ESI-MS：[M＋Na]$^+$ $m/z$ 357.2036。$^1$H-NMR（600 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：3.88（1H，d，$J$ = 5.4 Hz，H-11′），2.43-2.37（2H，m，H-6），2.26（1H，p，$J$ = 6.8 Hz，H-2′），2.17-2.12（1H，m，H-7′），1.95（1H，d，$J$ = 3.1 Hz，H-12′），1.92（1H，s，H-16），1.90（1H，d，$J$ = 3.1 Hz，H-1′），1.89（1H，d，$J$ = 2.7 Hz，H-12），1.88-1.83（1H，m，H-13），1.80（1H，ddd，$J$ = 13.6，11.7，2.5 Hz，H-3′），1.73（1H，td，$J$ = 13.3，3.5 Hz，H-9），1.47-1.42（1H，m，H-2），1.42- 1.38（1H，m，H-7），1.38-1.34（1H，m，H-5），1.23（3H，d，$J$ = 6.9 Hz，H-17），1.21（3H，s，H-20），1.18（2H，d，$J$ = 12.4 Hz，H-14），1.13-1.08(1H，m，H-1），1.06（1H，dd，$J$ = 13.5，4.4 Hz，H-3），0.96（3H，s，H-18）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：40.6（C-1），20.0（C-2），39.0（C-3），44.6（C-4），57.5（C-5），21.3（C-6），36.3（C-7），52.5（C-8），62.3（C-9），39.7（C-10），65.7（C-11），34.4（C-12），35.9（C-13），38.3（C-14），224.8（C-15），50.6（C-16），11.5（C-17），29.4（C-18），181.3（C-19），16.0（C-20）。以上数据与文献报道一致（Maosong et al.，2016），故鉴定化合物 **7** 为 *ent*-11$\alpha$-hydroxy-15-oxokauran-19-oic acid。

**化合物 8**：$C_{20}H_{28}O_4$，白色结晶（甲醇）；HR-ESI-MS：$[M+Na]^+$ *m/z* 355.1879。$^1$H-NMR（600 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：5.72（1H，s，H-17），5.24（1H，s，H-17），4.01（1H，d，*J* = 4.6 Hz，H-11），3.03（1H，d，*J* = 4.0 Hz，H-13），2.43（1H，d，*J* = 11.8 Hz，H-9），1.22（3H，s，H-19），0.99（3H，s，H-20）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$： 40.9（C-1），20.1（C-2），39.0（C-3），44.7（C-4），57.5（C-5），21.2（C-6），37.8（C-7），52.0（C-8），63.7（C-9），40.0（C-10），66.7（C-11），41.4（C-12），38.5（C-13），35.3（C-14），212（C-15），152.2（C-16），112.7（C-17），29.5（C-18），181.4（C-19），16.3（C-20）。以上数据与文献报道一致（张德志等，1990），故鉴定化合物 **8** 为 *ent*-11$\alpha$-hydroxy-15-oxokaur-16-en-19-oic acid。

**化合物 9**：白色针状结晶（氯仿）；$^1$H-NMR（600 MHz，Chloroform-*d*）$\delta$：5.35（1H，d，*J* = 4.5 Hz，H-6），3.56-3.48（1H，m，H-3），1.00（3H，s，$CH_3$-19），0.92（3H，d，*J* = 6.4 Hz，$CH_3$-21），0.84（3H，d，*J* = 2.5 Hz，$CH_3$-29），0.82（3H，d，*J* = 6.5 Hz，$CH_3$-26），0.80（3H，s，$CH_3$-27），0.67（3H，s，$CH_3$-18）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，Chloroform-*d*）$\delta$：37.4（C-1），32.1（C-2），72.0（C-3），42.5（C-4），140.9（C-5），121.9（C-6），31.8（C-7），32.1（C-8），50.3（C-9），36.7（C-10），21.2（C-11），39.9（C-12），42.4（C-13），56.9（C-14），24.5（C-15），28.4（C-16），56.2（C-17），12.0（C-18），18.9（C-19），36.3（C-20），19.2（C-21），34.1（C-22），26.2（C-23），46.0（C-24），29.3（C-25），20.0（C-26），19.5（C-27），23.2（C-28），12.1（C-29）。以上数据与文献报道一致（Song et al.，2013），故鉴定化合物 **9** 为 $\beta$-谷甾醇。

**化合物 10**：$C_{26}H_{38}O_9$，白色结晶（甲醇）；HR-ESI-MS：$[M+Na]^+$ *m/z* 517.2408。$^1$H-NMR（600 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：5.71（1H，s，H-17），5.41（1H，d，*J* = 8.0 Hz，H-1′），5.23（1H，s，H-17），4.00（1H，d，*J* = 4.3 Hz，H-11），3.83（1H，d，*J* = 11.9 Hz，H-13），3.69（1H，dd，*J* = 12.0，4.1 Hz，H-9），3.40（1H，d，*J* = 9.1 Hz，H-3′），3.37（1H，s，H-4′），3.36（1H，d，*J* = 1.3 Hz，H-5′），3.35（1H，s，H-2′），3.03-3.00（2H，m，H-6′），2.47（1H，d，*J* = 12.0 Hz，H-14），2.21（1H，d，*J* = 13.1 Hz，H-3），2.10-2.06（1H，m，H-2），2.04-1.98（1H，m，H-1），1.97（1H，s，H-2），1.94（2H，d，*J* = 3.2

Hz，H-6），1.83-1.77（1H，m，H-7），1.48 -1.44（1H，m，H-14），1.38-1.37（1H，m，H-7），1.35（2H，s，H-12），1.26（3H，s，H-18），1.23（1H，d，$J$ = 6.7 Hz，H-5），1.14-1.11（1H，m，H-1），1.09（1H，d，$J$ = 4.1 Hz，H-3），0.99（3H，s，H-20）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：40.8（C-1），19.9（C-2），38.9（C-3），45.0（C-4），58.0（C-5），21.0（C-6），37.7（C-7），52.0（C-8），63.6（C-9），40.1（C-10），66.8（C-11），41.3（C-12），38.5（C-13），35.3（C-14），212.1（C-15），152.4（C-16），112.6（C-17），29.0（C-18），178.0（C-19），16.3（C-20），95.6（C-1′），74.0（C-2′），78.7（C-3′），71.1（C-4′），78.7（C-5′），62.4（C-6′）。以上数据与文献报道一致（Kazuo et al.，1977），故鉴定化合物 **10** 为 *ent*-11*α*-hydroxy-15-oxokaur-16-en-19-oic acid-*O*-glucopyranoside。

**化合物 11**：$C_{16}H_{22}O_4$，白色油状物；HR-ESI-MS：$[M+Na]^+$ *m/z* 301.141 0。$^1$H-NMR（600 MHz，DMSO-$d_6$）$\delta$：7.71（2H，dd，$J$ = 5.7，3.4 Hz，H-3，3′），7.66（2H，dd，$J$ = 5.7，3.4 Hz，H-4，4′），4.21（4H，t，$J$ = 6.6 Hz，H-6，6′），1.66-1.60（4H，m，H-7，7′），1.39-1.33（4H，m，H-8，8′），0.88（6H，dt，$J$ = 22.5，7.5 Hz，H-9，9′）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，DMSO-$d_6$）$\delta$：131.8（C-2，2′），128.8（C-3，3′），131.7（C-4，4′），167.2（C-5，5′），65.2（C-6，6′），30.1（C-7，7′），18.8（C-8，8′），13.7（C-9，9′）。以上数据与文献报道一致（Liu et al.，2010），故鉴定化合物 **11** 为 5, 5'-二丁氧基-2, 2'-双环呋喃。

**化合物 12**：$C_{24}H_{38}O_4$，黄色油状物；HR-ESI-MS：$[M+Na]^+$m/z 413.266 2。$^1$H-NMR（600 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：7.72（2H，d，$J$ = 9.1 Hz，H-3，3′），7.62（2H，d，$J$ = 9.1 Hz，H-4，4′），4.31-4.21（4H，m，H-6，6′），1.71（2H，dt，$J$ = 20.5，6.6 Hz，H-7，7′），1.49-1.43（4H，m，H-12，12′），1.44-1.40（4H，m，H-8，8′），1.39（4H，m，H-10，10′），1.36 -1.33（4H，dd，$J$ = 19.3，7.4 Hz，H-9，9′），0.97（6H，dd，$J$ = 19.3，7.4 Hz，H-13，13′），0.93（6H，t，$J$ = 7.4 Hz，H-11，11′）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：133.6（C-2，2′），129.9（C-3，3′），132.4（C-4，4′），169.3（C-5，5′），69.1（C-6，6′），40.2（C-7，7′），31.6（C-8，8′），30.1（C-9，9′），24.0（C-10，10′），14.4（C-11，11′），25.0（C-12，12′），11.4（C-13，13′）。以上数据与文献报道一

致（Zhi et al.，2015），故鉴定化合物 **12** 为 5, 5'-二 (2-乙基-己氧基)-2, 2'-双环呋喃。

**化合物 13**：白色结晶（甲醇）；$^{1}$H-NMR（600 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：5.75（1H，s，H-7），4.22（1H，p，$J$ = 3.5 Hz，H-3），2.42（1H，dt，$J$ = 13.5，2.6 Hz，H-4），1.99（1H，dt，$J$ = 14.4，2.7 Hz，H-2），1.76（3H，s，H-11），1.74（1H，d，$J$ = 4.2 Hz，H-4a），1.53（1H，dd，$J$ = 14.5，3.8 Hz，H-2），1.46（3H，s，H-9），1.28（3H，s，H-10）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：174.5（C-2），113.3（C-3），185.7（C-3a），37.2（C-4），47.9（C-5），67.2（C-6），46.4（C-7），89.0（C-7a），27.0（C-8），31.0（C-9），27.4（C-10）。以上数据与文献报道一致（Yang et al.，2020），故鉴定化合物 **13** 为黑麦草内酯。

**化合物 14**：白色结晶（甲醇）；$^{1}$H-NMR（600 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：2.52（4H，s，H-2，3）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：176.2（C-1，4），29.8（C-2，3）。以上数据与文献报道一致（李燕等，2007），故鉴定化合物 **14** 为丁二酸。

**化合物 15**：白色结晶（甲醇）；$^{1}$H-NMR（600 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：6.76（2H，s，H-2，3）；$^{13}$C-NMR（150 MHz，Methanol-$d_4$）$\delta$：168.0（C-1，4），135.2（C-2，3）。以上数据与文献报道一致（谭冰心等，2017），故鉴定化合物 **15** 为富马酸。

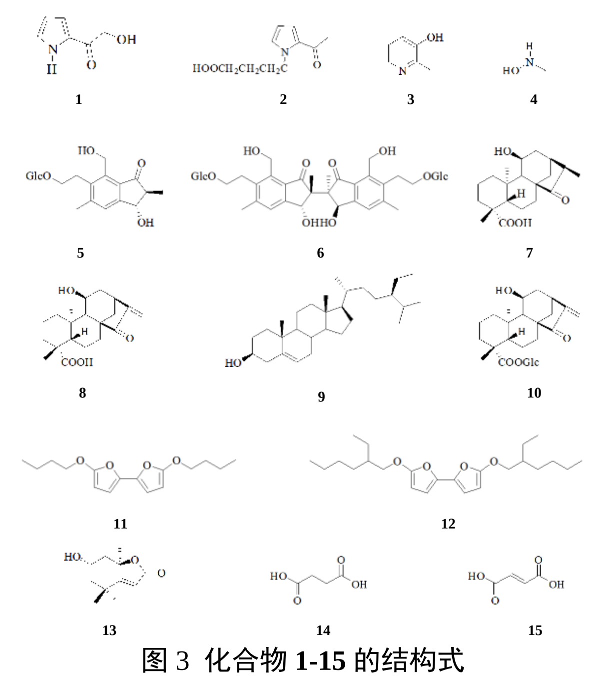



图 3 化合物 **1-15** 的结构式

Fig. 3 the structural formula of compounds **1-15**

## 4 抗肿瘤、抗凝血活性筛选结果

### 4.1 抗肿瘤活性筛选结果

选取化合物 **1**、**2**、**3**、**4**、**5**、**6**、**10**，采用 MTS 法对 HL-60 白血病细胞、A549 肺癌细胞、SMMC-7721 肝癌细胞、MDA-MB-231 乳腺癌细胞和 SW480 结肠癌细胞进行筛选，以顺铂（DDP）、紫杉醇（Taxol）作为阳性对照。结果表明，6 个化合物对 HL-60、A549、SMMC-7721、MDA-MB-231、SW480 等肿瘤细胞均显示不同的抗肿瘤活性，具体数据见表 2。

表 2 化合物对 5 种肿瘤细胞的抑制率

Table 2 The inhibitory rates of the compounds on 5 kinds of tumor cells

| 编号 No. | 浓度 C（μmol/L） | 抑制率 Inhibition rate（%） | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | HL-60 | A549 | SMMC-7721 | MDA-MB-231 | SW480 |
| **1** | 40 | 6.04±0.81 | 11.16±0.97 | 13.84±0.48 | 13.80±1.64 | 9.78±0.35 |
| **2** | 40 | 7.43±2.49 | 10.31±0.96 | 15.44±2.96 | 14.15±0.83 | 2.58±3.87 |
| **3** | 40 | 2.20±1.32 | 9.85±1.35 | 19.25±1.39 | 13.71±3.35 | 6.11±2.01 |
| **5** | 40 | 8.56±1.63 | 7.32±1.31 | 11.18±2.42 | 11.42±2.60 | 0.72±2.26 |
| **6** | 40 | 6.23±1.68 | 11.13±0.93 | 16.02±2.59 | 12.37±3.75 | 8.60±2.78 |
| **10** | 40 | 7.40±0.98 | 7.48±2.28 | 7.90±2.92 | 14.24±1.43 | 2.69±2.19 |
| DDP | 40 | 98.18 | 88.62 | 95.17 | 58.39 | 80.72 |
| Taxol | 5 | 87.73 | 65.07 | 60.00 | 58.26 | 53.02 |

### 4.2 抗凝血活性筛选结果

通过测定化合物 **1**、**2**、**3**、**4**、**5**、**6**、**10** 人质控血浆 APTT（Activated Partial Thromboplastin Time，活化部分凝血活酶时间）、PT（Prothrombin Time，凝血酶原时间）和 TT（Thrombin Time，凝血酶时间）的影响来进行抗凝血活性测定，APTT 和 TT 两组是以依诺肝素（LMWH）为阳性对照，PT 组是以肝素（HEP）为阳性对照。结果表明，与空白对照组相比，当样品浓度为 2.0 mmol/L 时，化合物 **1**、**2**、**3**、**6** 对 APTT 有微弱缩短作用，化合物 **1**、**5**、**6** 对 PT 有微弱延长作用。具体数据见表 3。

表 3 样品对 APTT, PT, TT 的影响（*n*=3）
Table 3 effect of samples on APTT, PT, TT (*n* = 3)

| 编号 | 检测浓度 | 样品血浆浓度 | X±SD | | |
|---|---|---|---|---|---|
| No. | $C_1$(mmol/L) | $C_2$(μmol/L) | APTT | PT | TT |
| Con. | -- | -- | 34.2±0.32 | 12.4±0.06 | 13.4±0.55 |
| LMWH | 35.6 | 3.56 | 134.2±3.56*** | | |
| HEP | 160 μg/mL | 16 μg/mL | | 25.3±0.26*** | |
| LMWH | 8.89 | 0.889 | | | 38.8±0.91*** |
| **1** | 2.0 | 200 | 33.0±0.38* | 12.7±0.12* | 13.7±0.30 |
| **2** | 2.0 | 200 | 33.5±0.15* | 12.8±0.42 | 14.3±0.36 P=0.0700 |
| **3** | 2.0 | 200 | 33.6±0.20* | 12.3±0.78 | 12.9±0.84 |
| **5** | 2.0 | 200 | 33.7±0.35 | 12.7±0.06** | 13.6±0.44 |
| **6** | 2.0 | 200 | 33.3±0.20* | 12.7±0.06** | 14.0±0.20 |
| **10** | 2.0 | 200 | 33.2±0.60 $^{P=0.0538}$ | 12.8±0.21 $^{P=0.0557}$ | 14.3±0.26 P=0.0572 |

注：与空白对照比较：* P < 0.05，** P < 0.01，*** P < 0.001
Note: Comparison with blank control: * P < 0.05，** P < 0.01，*** P < 0.001

## 5 讨论

本实验共分离得到 15 个化合物，其中化合物 **1** 为新天然产物，除化合物 **8**、**9** 外，其余化合物均为首次从剑叶凤尾蕨中分离获得。经查阅文献，化合物 **6** 对 HCT-116 细胞表现出细胞毒活性（段洁等，2009），化合物 **8** 具有抗肿瘤、抗炎、抗血小板聚集等药理活性（姜纪武等，1996），化合物 **9** 具有降胆固醇、降血糖、抗氧化、抗炎、抑菌等作用（陈跃平等，2021）。且本次实验对化合物 **1**、**2**、**3**、**4**、**5**、**6**、**10** 进行了抗肿瘤及抗凝血活性筛选，结果表明，该 6 个化合物在浓度为 40 μmol/L 时可抑制肿瘤细胞 HL-60、A549、SMMC-7721、MDA-MB-231 及 SW480 的体外肿瘤生长；样品浓度为 2.0 mmol/L 时，化合物 **1**、**2**、**3**、**6** 对 APTT 有缩短作用，化合物 **1**、**5**、**6** 对 PT 有延长作用。

综上，本实验结果丰富了黔产剑叶凤尾蕨的化学成分及生物活性研究，显示黔产剑叶凤尾蕨中的化学成分结构多样化，及在抗肿瘤方面具有潜在的应用前景，为剑叶凤尾蕨植物在药用价值上的开发利用提供物质基础及科学依据。但该

文未对每种肿瘤细胞进行多种细胞系进行研究，有待进一步研究。

参考文献

ZHANG Y, SHI YS, HU WZ, et al., 2016. Chemical constituents of *Pteris multifida* and cytotoxic activities[J]. Chin J Chin Mater Med, 41(24): 4610-4614. [张艳，石玉生，胡文忠，等，2016. 剑叶凤尾蕨化学成分及其细胞毒活性研究[J]. 中国中药杂志，41(24): 4610-4614.]

SHI YS, ZHANG Y, HU WZ, et al., 2017. Cytotoxic diterpenoids from *Pteris ensiformis*[J]. J Asian Nat Prod Res, 19(2): 188-193.

LIVA H, KATSUYOSHI M, HIDEAKI O, 2009. Chemical constituents of *Pteris cretica* Linn (Pteridaceae)[J]. Biochem Syst Ecol, 37(2): 133-137.

PAN LT, ZHAO JH, SUN QW, 2012. Medicinal ferns of Guizhou [M]. Guiyang: Guizhou Sci. Tech. Press. [潘炉台，赵俊华，孙庆文，2012. 贵州药用蕨类植物[M]. 贵阳：贵州科技出版社.]

GUAN YG, HU WZ, SHI YS, et al., 2018. Research progress in terpene constituents and biological activities of *Pteris*[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 24(3): 219-227.[管玉格，胡文忠，石玉生，等，2018. 凤尾蕨属植物中萜类成分及其生物活性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 24(3): 219-227.]

HOU MY, HU WZ, HAO KX, et al., 2020. Chemical constituents from *Pteris ensiformis* Burm. (Pteridaceae)[J]. Biochem Syst Ecol, 92(1): 104107.

LI M, HUANG XL, WANG L, et al., 2019. Chemical constituents from *Sauropus spatulifolius*[J]. Chin Med Mat, 42(7): 1541-1545. [李蒙，黄晓雷，王璐，等, 2019. 龙脷叶化学成分研究[J]. 中药材, 42(7): 1541-1545.]

DUAN J, LI W, HU XJ, et al., 2009. Chemical constituents from *Silene rubicunda* Franch[J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 40(4): 528-530. [段洁，李巍，胡旭佳，等, 2009. 九子参化学成分研究[J]. 中草药, 40(4): 528-530.]

ZHANG B, PENG X, HE YL, et al., 2018. Chemical constituents from *Oxalis corniculata*[J]. Chin Med Mat, 41(8): 1883-1886. [张宝，彭潇，何燕玲,等, 2018. 酢浆草的化学成分研究[J]. 中药材, 41(8): 1883-1886.]

MURAKAMI T, MAEHASHI H, TANAKA N, et al., 1985. Chemical and Chemotaxonomi

-cal Studies on Filices. LV. Studies on the Constituents of Several Species of *Pteris*[J]. Yakugaku Zasshi-J Pharm Soc J, 105(7): 640-648.

PENG CY, LU J, LIU JQ, et al., 2020. Three novel pterosin dimers form *Pteris obtusiloba*.[J]. Fitoterapia, 146: 104713-104713.

MAOSONG Q, BAO Y, DI C, et al., 2016. Two new hydroxylated *ent*-kauranoic acids from *Pteris semipinnata*[J]. Phytochem Lett., 16: 156-162.

ZHANG DZ, LI X, ZHU TR, 1990. Studies on Strueture of DiterPenes from *Artemisia Saerorum* Ledeb[J]. J Instrumental Anal, 4(6): 27-31. [张德志, 李铣, 朱廷儒, 1990. 万年蒿中二萜类化合物的结构研究[J]. 分析测试通报, 4(6): 27-31.]

SONG Y, WEI X, Lin HJ, et al, 2013. Chemical Constituents of *Caesalpinia decapetala* (Roth) Alston[J]. Molecules, 18(1). 1325-1336.

KAZUO Y, HIROSHI K, TOSHIKO K, et al., 1977. Application of 13C Nuclear Magnetic Resonan ce Spectroscopy to Chemistry of Glycosides : Structures of Paniculosides-I, -II, -III, -IV, and -V, Diterpene Glucosides of *Stevia paniculata* LAG.[J]. Chem Pharm, 25(11): 2895-2899.

LIU J, XU J, ZHAO X J, et al. , 2010. A new heterocyclic compound from *Cyathula officinalis* Kuan[J]. Chin Chem Lett, 21(1): 70-72.

ZHI BC, JUN C, YING Z, et al., 2015. Chemical Constituents of *Cordyceps cicadae*[J]. Nat Prod Commun, 10(12): 2145-2146.

YANG C, ZHOU T, HAN S, et al., 2020. Alkaloids and terpenoids from *Trigonostemon lutescens* and their potential antiproliferative activity[J]. Chem Nat Compd, 56(4): 763-766.

LI Y, GUO SX, WANG CL, et al., 2007. Studies on chemical constituents in cell cultures of *saussurea involucrata*[J]. Chin Pharm J, 42(23): 1768-1769. [李燕, 郭顺星, 王春兰, 等, 2007. 天山雪莲细胞培养物化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 42(23): 1768-1769.]

TAN BX, PENG GT, YU S, et al., 2017. Chemical Constituents of *Adenosma glutinosum*[J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 48(10): 2024-2027. [谭冰心, 彭光天, 于思, 等, 2017. 毛麝香的化学成分研究[J]. 中草药, 48(10): 2024-2027.]

JIANG JW, JIANG JW, JIN M, et al., 1996. Colorimetric determination of flavonoid in *Pteris*

*multifida* Poir[J]. Chin Pharm J, 31(10): 42-42. [姜纪武, 蒋建伟, 金明, 1996. 比色法测定凤尾草中黄酮类化合物的含量[J]. 中国药学杂志, 31(10): 42-42.]

CHEN YP, XIE T, ZHANG H, et al., 2021. Physiological function of *β*-sitosterol and its application in animal production[J]. Chin J. Anim Nutr, 12(12):1-11.[陈跃平, 谢婷, 张昊, 等, 2021. *β*-谷甾醇的生理功能及其在动物生产中的应用研究进展[J]. 动物营养学报, 12(12):1-11.]